Aus dem Pharmakologischen Institut
der Universität zu Halle-S.
Direktor: Professor Dr. Kochmann.

Wirksamkeit des Epithelkörperchenhormons bei peroraler Darreichung im Vergleich zu A. T. 10.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Würde eines Doktors der Zahnheilkunde

verfaßt und vorgelegt

einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Martin Luther-Universität Halle-Wittenberg

von

Zahnarzt **Otto Steinemann**
aus Oebisfelde

— 1936 —

Druck von Wilhelm Hendrichs, Halle 1936.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen Eltern gewidmet!

Seit **Gley** im Jahre 1891 als erster erkannte, daß nicht der Ausfall der Schilddrüsen, sondern eine mangelnde Funktion oder ein Fehlen der Beischilddrüsen (Epithelkörperchen, in der Folge immer mit E. K. abgekürzt) für das als Tetanie bekannte Krankheitsbild verantwortlich zu machen sei, ist man auf der Suche gewesen nach dem wirksamen Stoff, vermittels dessen E. K. ihre Wirkungen ausüben.

Im Jahre 1925 gelang es **Collip,** aus den E. K. von Ochsen vermittels Säurehydrolyse eine Substanz zu gewinnen, die bei parenteraler Einverleibung die Eigenschaft hatte, bei Hunden, die man der E. K. beraubt und dadurch tetanisch gemacht hatte, die Erscheinungen der Tetanie zum Schwinden zu bringen. Der Kalkspiegel dieser Tiere, der nach der Parathyreoidektomie stark unter die Norm gesunken war, erreichte seine alte Höhe wieder, ja ließ sich darüber hinaus noch erhöhen. Auch bei normalen Tieren ließ sich durch Subkutaninjektion eine Erhöhung des Blutkalkspiegels erzielen. Bei Versuchen über die orale Wirksamkeit dieser Substanz machte **Collip** folgende Feststellung, die sich mit den Ergebnissen deckt, die schon 1916—17 **Edmunds** gewonnen hatte, nämlich, daß bei **Verfütterung** von E. K. keine Wirkung auf den Blutkalkspiegel zu erzielen war. Auch **Collip** konnte bei Verfütterung eines Extraktes, der subkutan zugeführt wirksam war, keine Steigerung des Blutkalkspiegels erzielen. Jedoch gelang es ihm bei Hunden, die durch operative Entfernung der E. K. tetanisch gemacht waren, die Krankheitserscheinungen in den meisten Fällen durch perorale Zufuhr des Hormons zum Schwinden zu bringen. Er schloß daraus, daß das Hormon am Tier peroral zugeführt keinen Einfluß auf den Kalkwechsel habe, da ja der Blutkalkspiegel gleich bleibt. Die Verschiedenartigkeit der

Wirkung am normalen und am parathyreoidektomierten Tier erklärt sich **Collip** durch die Annahme, daß vielleicht beim operierten Tier die Resorption des Hormons beschleunigt sei, und es dadurch einer langen, zerstörenden Einwirkung der Verdauungssäfte entzogen würde. Wörtlich sagt **Collip**: „The effect of oral administration therefore must lie in rapid absorption and so in circumvention of encyme action."

Auch **Blum** kommt auf Grund seiner Versuche zu dem Schluß, daß sich durch orale Gaben wirksamer Substanz die Tetanie beheben läßt. Während jedoch nach **Collip** in den E. K. das fertige Hormon liegt und isoliert werden kann, ist **Blum** der Ansicht, daß in den E. K. nur eine Hormonvorstufe, ein Hormogen, erzeugt wird. Er kam zu dieser Annahme dadurch, daß Verfütterung selbst großer Mengen E. K. in Substanz an parathyreoprive Katzen erfolglos war. Die aktive Form des wirksamen Stoffes findet sich nach **Blum** im Blut und zum geringen Teil auch in der Milch. Es gelang dem Forscher nämlich durch Ernährung parathyreopriver Katzen mit frischem Blut und Milch diese über ein Jahr lang ohne tetanische Erscheinungen am Leben zu erhalten. Ueber die Wirkung der Bluternährung auf den Kalkspiegel des normalen Tieres findet sich bei **Blum** nichts. Zu erwähnen ist noch, daß **Blum** nicht eigentlich im Gegensatz zu **Collip** steht, wenn er durch Verfütterung von E. K. an operierten Katzen keinen Erfolg erzielte, während **Collip** tetanische Hunde am Leben erhält, denn **Blum** gibt zu, daß es durch solch eingreifende Maßnahmen, wie es die Säurehydrolyse des Collip'schen Verfahrens der Hormongewinnung darstellt, möglich ist, direkt eine Substanz zu isolieren, die wie das Hormon der Blum'schen „Schutzkost" peroral zugeführt, wirksam ist.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen Collip's, daß beim normalen Hunde durch orale Verabreichung des Hormons keine Wirkung, gemessen am Blutkalkspiegel, zu erzielen sei, stehen die Ergebnisse von **Peritz**. Dieser verabreichte zwei normalen Hunden je 90 Collip-Einheiten (in der Folge nur mit C.E. abgekürzt) des deutschen Hormonpräparats „Paratotal" per os und erzielte nach 24 Stunden eine Steigerung des Blut-

kalkspiegels von 12,25 mg auf 15,70, bezw. von 12,60 auf 14,20 mg, also Werte, die den bei parenteraler Applikation erzielten in keiner Weise nachstehen, ja fast noch besser sind. Auch im zeitlichen Ablauf ist nach **Peritz** das Verhalten beider Applikationsarten fast gleich. **Peritz** sagt wörtlich: Ein auf C. E. geeichtes E. K-Hormonpräparat (Paratotal) steigert oral quantitativ sowohl wie zeitlich in derselben Weise wie intramuskulär injiziert den Kalkserumspiegel."

Da nun bei der Behandlung der Tetanie das Hormon nicht nur parenteral, sondern auch peroral dargereicht wird, so erschien es uns angesichts mancher Widersprüche wünschenswert, die Frage, ob bei normalen Tieren die orale Verabreichung des E. K.-Hormons einen Einfluß auf den Kalkstoffwechsel ausübt, zu prüfen und zwar mit einer Methode, die in letzter Zeit von **Kochmann** für die Wertbestimmung des Hormons vorgeschlagen wurde. Sie sei hier kurz erläutert. Um zu erkennen, ob das Parathormon auf den Kalkwechsel des Organismus irgend einen Einfluß ausübt, genügt es nicht, den Blutkalkspiegel festzustellen. Eine Erhöhung oder Erniedrigung desselben kann nicht als alleiniges Kriterium dafür angesehen werden, ob das E. K.-Hormon wirkt oder nicht. Da der Kalkspiegel die Resultante aus Zufluß und Abgang ist, kann man sich gut vorstellen, daß auch bei gleichbleibendem Kalkspiegel Kalk mobilisiert wird, in erhöhtem Maße ins Blut übertritt, aber auch in gleichem Umfang aus dem Blut wieder verschwindet; oder umgekehrt, wenn der Kalkzufluß zum Blut gedrosselt wird, so könnte im gleichem Maße der Abfluß vermindert werden. Es ist also möglich, daß der Kalkumsatz im Organismus mehr oder minder starke Veränderungen erleidet, ohne daß dies seinen Ausdruck im Blutkalkspiegel findet. Daß solche Verhältnisse tatsächlich vorliegen können, zeigen uns die Angaben von **Pugsley, Selye** und **Bülbring** mit ziemlicher Deutlichkeit.

Pugsley und Selye behandelten Ratten mit Parathormon. Im Verlauf der Injektion stieg der Kalkspiegel, erreichte am 4. Tage sein Maximum, um dann trotz gleichbleibender Hormongaben zur Norm abzusinken. Aehnlich verhielt sich die Calciumausscheidung im Harn. Scheinbar verlor also das Hormon

seine Wirksamkeit bei wiederholten Gaben, denn der Kalkspiegel wurde ja wieder normal. Daß dies jedoch nicht der Fall war, konnten die oben erwähnten Forscher mit dem Mikroskop beweisen. Es gelang ihnen zu zeigen, daß analog der anfangs steigenden Kalkserumkurve eine stärkere Osteoklase einsetzte, die aber mit fallendem Kalkspiegel mehr und mehr schwand, und einer stärkeren Osteoblastentätigkeit Platz machte, die trotz normalen Kalkspiegels anhielt. Die Wirkung des E. K.-Hormons äußerte sich in späteren Stadien nicht so sehr an den Calcium des Blutes, daß wir ja allein mit der quantitativen Methode erfassen, sondern sie zeigte sich ausschließlich nur noch an den Umbauvorgängen am Knochen. Mit der Methodik **Kochmanns** gelingt es nun nicht nur, das Calcium des Blutes zu erfassen, sondern allen Kalk, den das E. K.-Hormon irgendwie im Körper mobilisiert. Auf folgende Weise scheint dies zu gelingen.

Zunächst wurde an Mäusen die geringste tödliche Dosis Natriumfluorid ermittelt. Diese Gabe des kalkfällenden Agens ließ die Tiere nach spätestens 5–6 Stunden unter starken tonisch-klonischen Krämpfen sterben. Wurde aber eine gewisse Zeit vorher eine bestimmte Menge Parathormon subkutan injiziert, so blieben die Tiere am Leben. Dies ist so zu erklären, daß durch die vorhergehende Parathormonbehandlung Kalk in größeren Mengen mobilisiert wurde ohne den Blutkalkspiegel zu heben Dieser Kalk steht nun für Bindung und Entgiftung des Natriumfluorids zur Verfügung, sodaß die Tiere überlebten. Nach **Kochmann** wurden 2,5 C. E. des Hormons = 1 Mäuse-Einheit benötigt, um die geringste sicher tödliche Dosis Natriumfluorid zu entgiften. Dieser Methode nun, die es ermöglicht, den gesamten mobilisierten Kalk zu erfassen, bedienten wir uns für unsere Untersuchungen, die, wie erwähnt, die Frage beantworten sollten: Ist der wirksame Stoff, der aus E. K. extrahiert wird, auch bei peroraler Zufuhr wirksam? Verwendet wurde das Hormonpräparat „Paratotal“*)

*) Der das Paratotal herstellenden Firma danken wir für die Überlassung des Präparates.

Als Versuchstiere verwendeten wir männliche weiße Mäuse im Durchschnittsgewicht von 16—20 g. Sie wurden mindestens 4 Tage in Einzelhaft gehalten, um sie auf gleichbleibendes Gewicht zu bringen und ihr Verhalten zu prüfen. Es gelangten so nur gewichtskonstante, gesunde Tiere zur Verwendung. Die Darreichung des Paratotals geschah anfangs so, daß wir das verdünnte Hormon in Brotwürfelchen von 7—8 mm Kantenlänge injizierten und es den Tieren zu fressen gaben. Die verschiedenen Nachteile dieser Methode, die nicht zum geringsten in der Ungenauigkeit der Dosierung, bedingt durch mangelhaftes Fressen oder Herumtragen und Verschmieren im Käfig bestand, ließen uns jedoch frühzeitig von ihr wieder Abstand nehmen und zur Sondenfütterung greifen. Diese ist nach unseren Erfahrungen die geeignetste, und bei einigem Geschick und etwas Uebung kaum Schwierigkeiten bietende Methode. Wir hatten bei rund 350 so ausgeführten Fütterungen nur 2 Perforationen des Oesophagus oder Magens. Alle anderen waren, wie der Sektionsbefund zeigte, in dieser Hinsicht einwandfrei. Das Natriumfluorid wurde subkutan injiziert. Zur Technik dieser Injektion sei noch folgendes bemerkt: Zur Verwendung gelangte eine Nadel von 17 mm Länge, die bis zum Ansatz unter das Fell des Rückens geschoben wurde. Nach der Injektion komprimierten wir die Einstichstelle mit einer Pinzette, zogen die Nadel heraus und massierten das gesetzte Depot der injizierten Flüssigkeit gut auseinander. Auf diese Weise lassen sich falsche Ergebnisse, bedingt durch Wiederausfließen von NaF oder mangelhafte, verzögerte Resorption, vermeiden.

Vor Beginn der eigentlichen Versuche stellten wir noch fest, ob die von **Kochmann** ermittelte geringste tödliche Dosis von 1.5 mg / 20 g Maus noch stimmte; denn daß in der Empfindlichkeit weißer Mäuse zu verschiedenen Zeiten gewisse Schwankungen auftreten, die sich nicht erklären lassen, konnten **Wieland und Pulewka** zeigen.

Tabelle I zeigt uns den Erfolg der Injektion von 1,5 mg Natriumfluorid / 20 g Maus einer 0,2 % Lösung.

Tabelle I.

Maus	Gewicht	NaF mg	ccm 0,2%	Ueberlebenszeit
1	19,0	1,425	0,71	4 Std.
2	17,5	1,313	0,66	3 „ 14'
4	19,5	1,462	0,73	1 „ 25'
5	13,5	1,093	0.55	5 „ 19'
6	19.0	1,425	0,71	4 „ 30'
55	13,5	1,013	0,51	2 „ 8'

Die Tabelle bestätigt den Befund **Kochmann's**. Alle Tiere starben den typischen Tod an NaF-Vergiftung mit den Symptomen, die schon **Tappeiner** und andere beschrieben. Sie seien kurz wiederholt: anfangs Unruhe der Tiere mit Putzen und Kratzen, dann Zittern, das sich zu heftigsten tonischen und klonischen Krämpfen steigert. Zwischen den Krampfanfällen Pausen mit völliger Erschlaffung. Nach durchschnittlich $1-1^1/_2$ Stunden wird Seitenlage ertragen. Spätestens nach 4—6 Stunden erfolgt der Tod. Wir können praktisch alle Mäuse, die nach länger als 6 Stunden sterben, als überlebend bezeichnen. Es wurden jedoch in unseren Tabellen nur diejenigen Tiere als überlebend bezeichnet, die sich tatsächlich von der NaF-Injektion soweit erholten, daß sie wieder fraßen und ohne kennbare Schädigung weiterlebten. Daß bei den Tieren, die länger als 6 Stunden die NaF-Injektion überlebten, und dann doch noch starben, eine Wirkung des Paratotals vorhanden gewesen sein könnte, dürfte vielleicht nach den bisherigen Darlegungen angenommen werden.

Wir begannen unsere Versuche mit kleinen Dosen Paratotal, die parenteral wirksam sind, nämlich 2 und 5 C. E. per os. Es ließ sich jedoch nicht die geringste Wirkung feststellen. Alle Tiere starben vor Ablauf von 5 Stunden.

Erst als wir 10 C. E. anwendeten, änderte sich das Bild, sowohl bei den Tieren, die das Paratotal in Brot bekamen, als auch bei den sondengefütterten, stellten wir eine deutliche Verzögerung des Todes fest, vorausgesetzt, daß das Na F 6 Stunden nach der Paratotal-Applikation injiziert wurde. Bei

Anwendung noch höherer Dosen als 10 C. E., nämlich 15 und 20, bekamen wir kein besseres, sondern eher ein schlechteres Ergebnis. (Giftwirkung des Konservierungsmittels?).

Da wir also mit 10 C. E. Paratotal und 6 Stunden danach erfolgter Na F-Injektion in den Vorversuchen ein positives Resultat bekamen, wiederholten wir den Versuch unter gleichen Bedingungen mit 15 Tieren. (Tabelle II.)

Tabelle II.

Datum	Maus	Gewicht	Ueberlebenszeit	Bemerkungen
22. 2.	56	15,0	39'	
„	54	17,0	45'	
„	57	21,5	1 Std. 40'	
1. 3.	48	14,5	2 „ 31'	
„	73	15,5	3 „ 27'	
„	61	17,0	zw. 3—12 Std.	wahrscheinlich länger
„	62	16,0	„ „ „	als 6 Stunden.
„	60	14,5	12 Std. 59'	
„	65	20,0	14 „ 50'	
„	53	19,0	25 „ 30'	
15. 2.	45	18,5	41 „	
22. 2.	50	15,5	überlebt	nicht weiter beobachtet
„	51	15.5	„	30. 4. = 21,5 g
„	52	18,0	„	30. 4. = 23,0 g
1. 3.	74	15,5	„	nicht weiter beobachtet

Von 15 Tieren überlebten also 4, was einen Prozentsatz von 26 % darstellt. Von den 11 Mäusen, die eines primären Na F-Todes starben, lebten 4 sicher länger als 6 Stunden, bei 2 anderen ist es unbestimmt, und nur 5, also ein Drittel der Gesamtzahl, starben den Frühtod.

Bei einem Vergleich der Ueberlebenszeiten der mit Paratotal vorbehandelten Tiere mit denen der Vergleichstiere, die nur Natriumfluorid erhalten hatten, ergibt sich eine Lebensdauer von etwa 11 Stunden gegen nicht ganz $3^1/_2$ Stunden. Bei der Berechnung mußten die beiden Tiere außer Acht gelassen werden, bei denen der Eintritt des Todes nicht zeitlich festgestellt wurde. Also 26 % der „Paratotaltiere“ überlebten,

26% leben länger als 6 Stunden und die Ueberlebenszeit der gestorbenen Tiere war durchschnittlich mehr als 3 mal größer als bei den Vergleichstieren.

Der nächste Versuch wurde so gestaltet, daß den Tieren das Paratotal an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen in Brot gegeben wurde und zwar 1, 2, 3, 4 und 5 Tage lang. Bei jeder Gruppe, die wieder unterteilt war in Tiere zu 2, 5 und 10 C. E. täglich pro Tier, wurde das Na F jeweils 6 Stunden nach der letzten Paratotalapplikation injiziert. Sämtliche Tiere starben den Frühtod. Unsere Erwartungen, daß vielleicht durch längere Eingabe des Paratotals eine bessere Wirkung zu erzielen sei, erfüllte sich nicht, jedenfalls nicht bei den großen Abständen von einem Tag zwischen den Einzelgaben. Ja die Ergebnisse waren sogar viel schlechter, als wenn nur ein einziges Mal Paratotal den Tieren zugeführt wurde. Es schien also geradezu zu einer Schädigung gekommen zu sein.

Um die hemmenden Faktoren auszuschalten, legten wir einen neuen Versuch so an, daß wir eine bestimmte Menge Hormons verteilt auf drei Einzelgaben an einem Tage verabreichten. Zwischen den Einzelgaben lag ein Zwischenraum von jedesmal 3 Std., 2 Stunden nach der letzten Eingabe erfolgte die Na F-Injektion.

Verabreichte Paratotalmengen:

2 Tiere bekamen je 3 C. E. (Einzeldosis 1 C. E.)
2 Tiere bekamen je 6 C. E. („ 2 C. E.)
2 Tiere bekamen je 12 C. E. („ 4 C. E.)

Die Verdünnung des Paratotals war 1:10, sodaß 0,16 ccm 1 C.E darstellten. Tabelle III zeigt das Ergebnis.

Tabelle III.

Datum	Maus	Gewicht	Ueberlebenszeit	Gabe d. Hormons
11. 6.	210	19,0	überlebt	3 C. E.
„	214	20,0	59'	3 C. E.
„	215	17.0	überlebt	6 C. E.
„	216	22,5	1 Std. 12'	6 C. E.
„	217	21,5	überlebt	12 C. E.
„	218	18,5	2 Std. 25'	12 C. E.

Von 6 Mäusen überlebten 3, also 50% und zwar je eine bei 3, 6 und 12 C. E. Die Tatsache, daß diesmal bei 3 C. E. eine Maus überlebte, also bei einer Menge, die weit unter der bisher erfolgreichsten von 10 C E. liegt, zeigt am besten, daß die Wirkung des Paratotals an der Maus am größten ist bei der Verabreichung in refracta dosi. Dies entspricht ja auch dem Ergebnis von **Kochmann,** der das Paratotal ebenfalls in 3 Einzeldosen am Tage darreichte und damit die besten Erfolge erzielte.

In Verfolg unseres Zieles, das Paratotal vom Magendarmkanal unter Umgehung der Subkutaninjektion zur Wirkung zu bringen, versuchten wir auch die rektale Darreichung. Da nach **Collip** das wirksame Prinzip der E. K. durch Pepsin und Trypsin zerstört werden soll, mußte es uns auf diese Weise gelingen, die Einwirkung der Fermente durch Umgehung des Magens und Duodenums zu unterbinden. Die Technik unseres Versuches gestaltete sich folgendermaßen: Als Injektionsinstrument verwendeten wir eine normale 17 mm Injektionsnadel, deren Spitze birnenförmig mit Siegellack umkleidet wurde, um eine Verletzung der Darmwand zu vermeiden. Da es nicht gelang, eine auch noch so geringe Menge Flüssigkeit den Tieren einzuverleiben, ohne daß sie sofort wieder ausgestoßen würde, wurden die Mäuse rückwärts auf ein Brett gebunden und mit Aether betäubt. Hierzu verwendeten wir einen Erlenmeyerkolben, der ätherdurchtränkte Watte enthielt. Mit dieser einfachen Einrichtung konnten wir nun die Narkose regeln, indem wir die Mündung des Kolbens mehr oder weniger über den Kopf der Maus schoben. Den betäubten Tieren wurde die Nadel in den After eingeführt und der After über der Nadel mit einer Klemme geschlossen. Jetzt wurde injiziert. Die Nadel ließen wir nun noch eine halbe Stunde im Darm liegen. Nach Verlauf dieser Zeit konnte Klemme und Nadel entfernt werden, ohne daß das injizierte Paratotal gleich wieder ausgestoßen wurde. Das Paratotal wurde unverdünnt injiziert, um größere Flüssigkeitsmengen zu vermeiden.

Die verwendete Menge betrug so pro Tier 10 C. E. in nur 0,17 ccm Flüssigkeit. In einem Vorversuch ermittelten

wir, daß die günstigste Zeit der Injektion des Na F etwa bei 10 Stunden nach der Verabreichung des Hormons liegen müsse. Der daraufhin ausgeführte Hauptversuch hatte folgendes Ergebnis:

Tabelle IV.

Datum	Maus	Gewicht	Ueberlebenszeit	Bemerkung:
1. 3.	95	18,0	14'	
„	88	16,0	32'	
„	79	17,0	44'	
„	98	15,0	1 Std. 25'	
„	93	19,5	1 „ 25'	
„	97	17,5	1 „ 42'	
„	83	16,5	1 „ 45'	
„	80	18,0	1 „ 47'	
„	68	16,0	2 „ 12'	
„	75	15,0	12 „ 10'	
„	59	16,5	überlebt	Beide Tiere verloren bis zum Tode n. 14—17 Tagen 4 g des Gewichts.
„	64	15,0	überlebt	

Der Erfolg ist mit 2 überlebenden Tieren und einer Durchschnittsüberlebenszeit der Uebrigen von 143 Minuten, gegen 205 Minuten Ueberlebenszeit der nichtvorbehandelten Tiere als schlecht zu bezeichnen. Wenn auch nicht geleugnet werden kann, daß eine Wirkung möglich ist, wie die beiden überlebenden Mäuse zeigen, kann man doch sagen, daß der Erfolg bei peroraler Zufuhr wesentlich besser und sicherer ist.

Wir sehen also aus diesen Versuchen, daß bei enteraler Einverleibung des Parathyreoideahormons keineswegs die gleichen Erfolge zu erzielen sind wie bei der subkutanen Injektion. Aber andererseits zeigt sich doch eine gewisse Wirkung, besonders bei peroraler Darreichung, die keineswegs gering angeschlagen werden kann. Die Möglichkeit, daß Hormon therapeutisch mit Erfolg per os anzuwenden, kann also nicht geleugnet werden.

In den folgenden Versuchen wollen wir die Frage zu beantworten suchen, wie sich bei Verwendung der Methode **Kochmann's** das neuerdings bei Tetanie verwendete **A. T. 10** vergleichsweise verhalten würde.

Das A. T. 10 ist ein Nebenprodukt des bestrahlten Ergosterins. Bei dessen experimenteller Anwendung gegen Rachitis hatte man beobachtet, daß sich in manchen Fällen Vergiftungserscheinungen bemerkbar machen, die sich in Gewichtsverlust, Mattigkeit und Kalkeinlagerung in die verschiedensten Organe, am regelmäßigsten in die Nieren äußerten.

Viele Forscher, die sowohl klinisch als auch experimentell ähnliche Beobachtungen gemacht hatten, nahmen an, daß sowohl die antirachitische Wirkung des Vigantols als auch die Hyperkalzinose von einem einheitlichen Körper, dem bestrahlten Ergosterin herrühre, und daß die Hyperkalzinose als eine Ueberdosierungserscheinung aufzufassen sei. Es gelang jedoch **Holtz** und Mitarbeitern zu zeigen, daß sich das bestrahlte Ergosterin aus 2 verschiedenen, wirksamen Körpern zusammensetzt: einmal dem Vitamin D, dem antirachitisch wirksamen Anteil, und zum anderen aus einem als Kalzinosefaktor bezeichneten Anteil. Beide Teile lassen sich dadurch trennen, daß man den thermolabilen, antirachitisch wirksamen Faktor inaktiviert, entweder durch Erhitzen, oder durch vorsichtiges Hydrieren, und den Kalzinosefaktor wirksam zurückbehält. Daß es sich tatsächlich um 2 verschiedene Komponenten handelt, bewies **Holtz** dadurch, daß es nicht gelang, irgendeinen Einfluß auf experimentelle Rattenrachitis mit dem Kalzinosefaktor zu erzielen.

Von therapeutisch außerordentlicher Wichtigkeit ist aber die Tatsache, daß es **Holtz** gelang, Hunde, die durch Parathyreoidektomie tetanisch gemacht waren, durch ständige perorale Eingabe des Kalzinosefaktors gesund am Leben zu erhalten. Im Gegensatz zu dem raschen Einsetzen und Abklingen der Wirkung der E. K.-Hormonpräparate zeigt der Kalzinosefaktor (im Handel als A. T. 10-Antitetanisches Präparat 10 erhältlich) ein langsames Einsetzen und eine sehr protrahierte Dauer der Wirkung*). Das ist namentlich für alle Fälle der chronischen Tetanie von großer praktischer Bedeutung, da man so eine

*) Der Firma Merck sprechen wir für die Ueberlassung des Präparates unseren Dank aus.

gleichmäßigere und anhaltendere Wirkung erzielt. Allerdings liegt in der lang anhaltenden Wirkung auch die große Gefahr einer toxischen Schädigung, die möglicherweise auf eine Kumulation zurückgeführt werden kann. Dies läßt sich beim Menschen jedoch dadurch vermeiden, daß man jeden einzelnen Patienten individuell unter ständiger Kontrolle des Blutkalkspiegels sorgfältig auf eine bestimmte Menge A. T. 10 einstellt, die auf keinen Fall überschritten werden darf, ohne nachteilige Folgen zu zeitigen. Das A. T. 10 ist also kein ungefährliches Heilmittel, sondern in größeren Mengen ein hochtoxischer Stoff.

Hyperkalzämie und Kalzinoseerscheinungen lassen sich sowohl durch E. K.-Hormonpräparate als auch durch A. T. 10 erzielen. Jedoch ergibt sich aus gewissen Unterschieden in der Art der Verkalkung, im Kurvenverlauf des Serumkalkspiegels und der verschiedenen Empfindlichkeit der einzelnen Tierarten gegen beide Pharmaka, daß für beide höchstwahrscheinlich ein verschiedener Wirkungsmechanismus angenommen werden muß.

Unsere eigenen Versuche hatten, wie schon erwähnt, die Aufgabe festzustellen, ob, und unter welchen Bedingungen mit der Na F-Methode die Wirkung des peroral dargereichten Präparates zu ermitteln sei, und welche Unterschiede sich unter Umständen gegenüber dem Paratotal bemerkbar machten.

Die technische Ausführung der Versuche war die gleiche wie bei den obigen Versuchen mit Paratotal. Da das A. T. 10 jedoch im Gegensatz zu Paratotal in Oel gelöst ist, wurden die versuchsnotwendigen Verdünnungen mit Olivenöl hergestellt.

Wir begannen mit einer **einmaligen** Gabe von A. T. 10, die der von 1 Mäuseeinheit = 2,5 C. E. gleichwertig sein sollte. Da nach den Angaben von **Holtz** etwa 1—1,5 ccm die Wirkung von 100 C. E. besitzen sollen, so entsprach 0,375, rd. 0,38 ccm A. T. 10 einer Mäuseeinheit **Kochmann's**. Nachdem die Tiere das A. T. 10 mittels Schlundsonde erhalten hatten, wurde ihnen nach 4 oder 8 oder 12 usw. Stunden die tödliche Gabe des Natriumfluorids subkutan injiziert. Die Einzelheiten des Versuches ergaben sich aus der Tabelle V (Seite 13).

Tabelle V.

Die Zahlen vor dem Semikolon ergeben die gesamten Tiere des Versuchs; die hinter dem Satzzeichen sind überlebende Tiere.

Na F-Injektion nach Stunden.

A. T. 10. ccm	4 Std.	8 Std.	12 Std.	16 Std.	20 Std.	25 Std.	30 Std.
0,037	2;0	2;0	2;0	2,1	2;1	2;1	
0,05				4;3	8;2	5;1	2;0
0,1				2;2	4;0	2;1	2;0
0,15					2;0		
0,2					7:3		
0,5					4;0		
0,6					2;1		

Die größte Anzahl der Versuchstiere bei 20 Stunden erklärt sich dadurch, daß wir bei dieser Zeitspanne zwischen A. T. 10 — und Natriumfluoriddarreichung ein Optimum der Wirkung zu erkennen glaubten. Es zeigt sich aber, daß 16 Stunden wohl noch günstigere Wirkungen hatten, da bei der Vorbehandlung mit 0,05 oder 0,1 fast alle Tiere am Leben blieben. Erfolgte die Natriumfluoridinjektion 12 oder 24 Std. nach der A. T. 10 Darreichung, so starben fast alle Tiere. Wenn es erlaubt wäre, die Zahlen etwas einheitlich zusammenzufassen, so könnte man vielleicht sagen, daß von 37 Mäusen, die das Natriumfluorid nach 16—20 Stunden bekamen, 12 Tiere am Leben blieben. Von den anderen 19 Tieren aber nur zwei. Aus dem Versuch gewinnt man ferner den Eindruck, daß die mittleren Gaben des A. T. 10 nicht schlechtere Bedingungen für die Entgiftung des Na F liefern als die höheren.

Da uns aber die Ergebnisse nicht befriedigten, so suchten wir durch mehrfache Eingabe des Kalzinosefaktors an aufeinanderfolgenden Tagen eine Verbesserung herbeizuführen. Die Injektion des Na F erfolgte 24 Stunden nach der letzten Einverleibung des A. T. 10 (s. Tab. VI, Seite 14).

Tabelle VI.

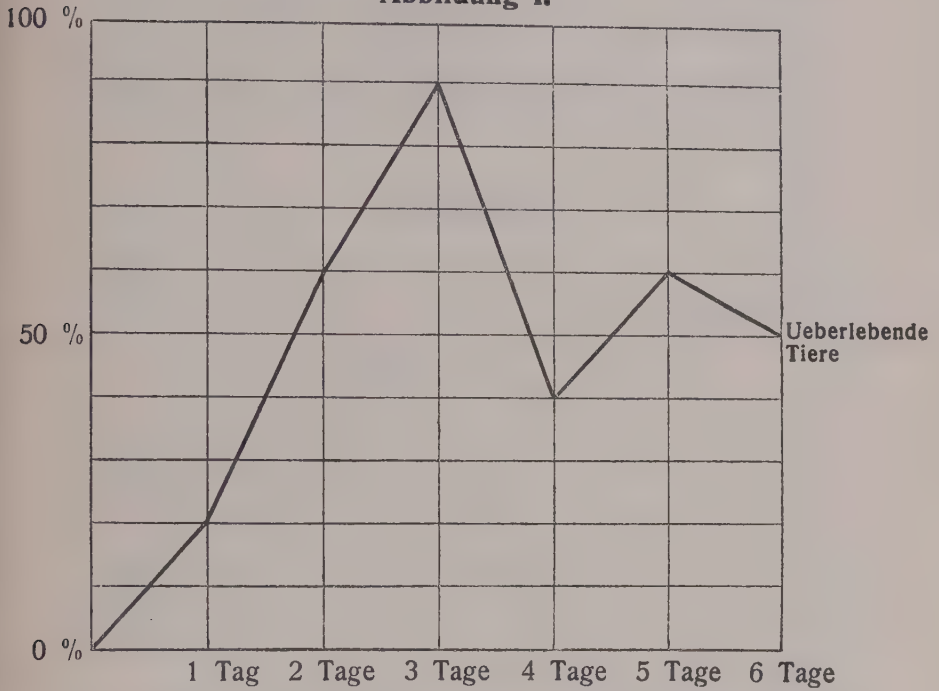
Maus	A. T. 10 0,05 g	Erfolg	Ueberlebenszeit der primär Gestorbenen
191	1 ×	+	2 Std.
192		+	2 Std. 9'
193	2 ×	überlebt	
195		+	5 Std. 45'
199	3 ×	überlebt	
200		überlebt	
196	4 ×	+	22 Std. 40'
197		überlebt	

Es kann also keinem Zweifel unterliegen, daß das A. T. 10 soviel Kalk mobilisieren kann, daß die Tiere die tödliche Gabe des Na F überstehen. A. T. 10 hat mithin in dieser Hinsicht die gleiche Wirkung wie das Hormon der Epithelkörperchen bei subkutaner Injektion und eine unvergleichlich viel bessere als die des Hormons bei peroraler Darreichung. Man kann aus diesen Tatsachen nur den Schluß ziehen, daß das Hormon vom Magendarmkanal schlecht resorbiert wird oder bei der Resorption Veränderungen erleidet, die seine Wirkung hemmen. Auch ein Abfangen in der Leber wäre nicht ausgeschlossen. Auf einen verschiedenen Wirkungsmechanismus deutet allerdings der Ausfall dieser Versuche nicht hin. Im Gegenteil, dem Natriumfluorid gegenüber verhalten sie sich gleich, sie vermögen offenbar beide den Kalk des Organismus zu mobilisieren oder in eine Form zu verwandeln, daß er zur Entgiftung des kalkfällenden Agens geeignet wird.

Um festzustellen, ob bei öfterer als 3 maliger Verabreichung des A. T. 10 ein gleicher Erfolg zu erzielen sei, oder ob tatsächlich diese das Optimum der Wirkung darstellt, wurden je 10 Tieren an 5 bezw. 6 und 7 aufeinanderfolgenden Tagen das Präparat in der gleichen Gabe von 0,05 ccm mit Olivenöl 10 fach verdünnt, mit der Schlundsonde beigebracht. Die folgende Abbildung gibt die Ergebnisse dieser Versuche kurvenmäßig wieder. Jeder der Kurvenpunkte ist mit 10 Tieren belegt. Auf der Abszisse ist die Anzahl der Tage angegeben,

an denen A. T. 10 verabreicht wurde, auf der Ordinate die Zahl der nach der Na F-Injektion überlebenden Tiere.

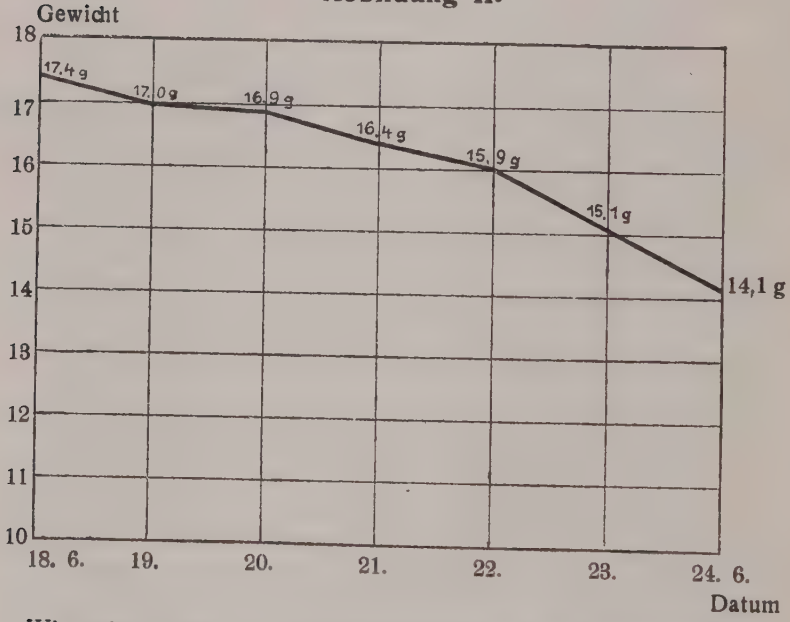
Abbildung I.



Wir sehen deutlich einen Anstieg der überlebenden Tiere bis zum Maximum am 3. Tag. Dann erfolgt einwandfrei eine Verschlechterung der Wirkung. Wie das besonders schlechte Abschneiden am 4. Tage zustandekommt, läßt sich nicht ohne weiteres erklären. Wahrscheinlich lagen besonders Umstände vor, die wir nicht beurteilen können; z. B. wäre eine besondere Empfindlichkeit einiger Mäuse gegen A. T. 10 möglich. Mag dem nun sein wie ihm wolle, einwandfrei steht fest, daß eine Verschlechterung der Wirkung des A. T. 10 nach dem 3. Tage erfolgt. Dies ließ sich schon erwarten nach dem Verhalten der Tiere, die 4 Tage und länger die verhältnismäßig große Menge von 0,05 ccm A. T. 10 täglich (ohne Na F) erhielten. Abgesehen von einigen ganz wenigen Ausnahmen,

konnte man feststellen, daß die Tiere ein struppiges Fell bekamen, sehr ruhig und apathisch herumsaßen, zum größten Teil flüssigen Kot abgaben und im gesteigertem Maße an Gewicht verloren, wie das die Abbildung II zeigt. Auch hier stellt jeder Kurvenpunkt das Mittel aus 10 Tieren dar. Auf der Abszisse sind die Anzahl der Tage, an denen A. T. 10 verabreicht wurde, auf der Ordinate die Durchschnittsgewichte der Tiere angegeben.

Abbildung II.



Wir sehen einen Durchschnittsgewichtsverlust von rund 3,5 g in 7 Tagen.

Fünf Tiere, die die oben beschriebenen Krankheitszeichen in besonders starkem Maße zeigten, starben nach der 4. bezw. 5. A. T. 10-Gabe spontan. Bei der Sektion fanden wir in zwei Fällen pneumonische Veränderungen in der Lunge, die anderen Fälle ließen aus dem Sektionsbefund keinen Rückschluß auf die mutmaßliche Todesursache zu. Daß die Pneumonie auf die toxische Wirkung des A. T. 10 zurückzuführen sein kann,

erscheint gut möglich, denn auch **Holtz** schreibt, daß er an Ratten, die große Gaben von A. T. 10 bekamen, in sehr vielen Fällen Entzündungen innerer Organe fand, vor allem auch vereiterte Lungen.

Diese toxische Wirkung fand nach **Holtz** — und damit kommen wir zu einer praktischen Anwendung unserer Versuche überhaupt — Verwertung bei der Festlegung eines bestimmten Wirkungsgrades mit dem Ziel einer biologischen Wertbestimmung des A. T. 10. Als „toxische Grenzdosis" wurde diejenige kleinste Tagesmenge bezeichnet, die in 12 Tagen 10mal unter bestimmten Bedingungen verabreicht, zu einer Gewichtsabnahme von 2,5 g oder zu dem Tode der Tiere führt, wobei die Mehrzahl der mit höheren Gaben behandelten Mäuse Kalkablagerungen in den Nieren haben soll.

Die Nachteile, die einer solchen Wertbestimmung anhaften, liegen wohl klar zutage. Einmal gibt die Gewichtsbestimmung leicht zu Fehlern Anlaß, besonders, wenn Unregelmäßigkeiten der Kot- und Urinentleerung eintreten. Vor allem aber ist es die lange Versuchsdauer von 12 Tagen, die das Verfahren außerordentlich unhandlich macht, und eine Erschwerung ist es auch, daß man noch mikroskopisch auf Kalkablagerungen in den Nieren fahnden muß.

Viel einfacher gestaltet sich eine Wertbestimmung, wenn man das von **Kochmann** angegebene Verfahren, das sich zur Standardisierung des Epithelkörperchenhormons als brauchbar erwiesen hat und das bei den eben beschriebenen Versuchen angewendet wurde, der Standardisierung des A. T. 10 zugrunde legt. Man würde für die Wirkungseinheit folgende Definition geben: Einheit ist diejenige kleinste Tagesmenge, die nach 3 tägiger peroraler Zufuhr männliche weiße Mäuse im Gewicht von 16 – 20 g die Vergiftung mit der geringsten tödlichen Gabe von Natriumfluorid überstehen läßt. In unseren Versuchen betrug die geringste sicher tödliche Dosis Na F 1,5 mg / 20 g Maus in 0,2 % Lösung bei subkutaner Injektion.

Als einziges und scharf umgrenztes Kriterium haben wir also nur die Tatsache zu werten, ob die Maus überlebt oder

nicht. Alle anderen Erscheinungen kann man zwar feststellen, aber für die Beurteilung sind sie nicht weiter maßgebend. Wir haben bei unseren Versuchen 0,05 g A. T. 10 verwendet. Wenn es auch nicht ganz sicher erscheint, daß wir nicht auch mit geringeren Mengen ausgekommen wären, so haben wir doch Grund zu der Annahme, daß man bei dem uns zur Verfügung stehenden Präparat nicht mehr wesentlich unter diese Gabe gehen kann. Aus diesen Versuchen lassen sich nach unserer Auffassung gewisse Schlußfolgerungen für die Anwendung des Hormons und des A. T. 10 ziehen. Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß selbst die parenterale Anwendung des Hormons kaum Gefahren für den Kranken im Gefolge hat. Noch weniger ist das der Fall bei peroraler Darreichung des Hormons, das bei mehrmaliger täglicher Aufnahme nicht unwirksam ist, wenn auch große Gaben verabfolgt werden müssen. Aus diesen Gründen wird man besonders bei leichteren Fällen von Tetanie die perorale Einverleibung versuchen können, besonders weil die parenterale Zufuhr in der Praxis auf Schwierigkeiten stoßen wird.

Das A. T. 10 birgt gewisse Gefahren in sich, da unter Umständen eine toxische Ueberdosierung nicht immer zu vermeiden ist, oder doch nur vermieden werden kann, wenn eine genaue Ueberwachung des sehr individuell zu behandelnden Kranken möglich ist, wie es zwar im Krankenhaus, aber kaum in der allgemeinen Praxis der Fall ist. Die Wirksamkeit des A. T. 10 übertrifft allerdings die des Paratotals bei oraler Darreichung. Im allgemeinen wird man sagen können, daß die Indikation für die Anwendung beider Präparate zwar die gleiche ist, daß aber die Möglichkeit, sie ohne Schädigung des Kranken anzuwenden, eine sorgfältige Auswahl erfordert.

Zusammenfassung.

1. Mit Hilfe des von **Kochmann** angegebenen Wertbestimmungsverfahrens läßt sich zeigen, daß das Epithelkörperchenhormon nicht nur bei parenteraler Einverleibung, sondern auch bei peroraler Darreichung wirksam ist. Die Wirksamkeit liegt aber weit unter der bei parenteraler Applikation.
2. Das günstigste Ergebnis wird erzielt, wenn das Hormon innerhalb von 8 Stunden in 3maliger Zuführung mittels Schlundsonde in den Magen gebracht wird. Es müssen aber 4mal größere Mengen peroral als parenteral verabreicht werden.
3. A. T. 10 vermag bei peroraler Verabreichung von 0,05 ccm des verwendeten Präparates an 3 aufeinanderfolgenden Tagen die Tiere gegen die tödliche Gabe des Natriumfluorids zu schützen.
4 Bei häufigerer Verabreichung ließen sich toxische Erscheinungen beobachten, die die Schutzwirkung verminderten. Ein- und zweimalige Einverleibungen hatten weniger günstige Wirkungen.
5. Die Ergebnisse lassen sich für eine Standardiserung des A. T. 10 auswerten, die gegenüber der gebräuchlichen Methode erhebliche Vorteile gewährt. Die Wirkungseinheit wird definiert.
6. Die Folgerungen für die praktische Anwendung von Parathyreoideahormon und A. T. 10 werden erörtert.

Zum Schluß meiner Arbeit möchte ich nicht versäumen, Herrn Prof. Dr. Kochmann für Ueberlassung der Arbeit und gütige Unterstützung bei der Anlage der Versuche und Ausarbeitung des Textes meinen Dank auszusprechen.

Literatur.

Blum, F.: Pflügers Archiv f. d. ges. Physiologie, Bd. 208 S. 318 1925 u. Dtsch. med. Wchschr. 1926 Nr. 37.

Brandt, v. Th. u. Holtz, F.:
Hoppe-Seylers Zeitschrift f. physiol. Chemie. Bd. 181, S. 227, 1928.

Brandt, v. Th., Holtz, F. u. Putschar, W.:
Archiv f. exp. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 167, S. 113, 1932.

Bülbring, E: Archiv f. exp. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 162, S. 209, 1931.

Collip, I.B.: Journ. of, Biol. Chem. Bd. 163, S. 395, 1925.

Collip. I.B., Clark, E.P. u. Scott, I.W.:
Journ. of Biol. Chem. Bd. 63, S. 439.

Edmunds, W.: Journ. of Pathol. Bd. 21. S. 23.

Holtz, F., u. Schreiber, F.:
Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 191, S. 1, 1931.

Kochmann, M.:
Dtsch. med. Wchschr. 1934, S. 1062.

Peritz: Med. Klinik. 1931, Nr. 10.

Pugsley, L.I. u. Selye, H.:
Journ. of. Physiol. Bd. 79. S. 113, 1931.

Tappeiner, H.:
Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 25, S. 203, 1889 und Bd. 27, S. 108, 1890.

Wieland, H, u. Pulewka, P.:
Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 120, Heft 3/4, 1927.

Lebenslauf.

Ich wurde am 8. Mai 1913 in Oebisfelde (Altmark) als Sohn des Kaufmanns Otto Steinemann und seiner Ehefrau Dorothee geb. Hartwig geboren. Nach Absolvierung meiner Schulzeit bestand ich im Jahre 1931 am Reform-Realgymnasium Gardelegen die Reifeprüfung Dann widmete ich mich an der Universität Halle dem Studium der Zahnheilkunde. Nach 4 Semestern bestand ich die zahnärztliche Vorprüfung und nach weiteren 4 Semestern legte ich das Staatsexamen in Halle mit gut ab. Anschließend vertrat ich Kollegen, und jetzt befinde ich mich seit dem 28. Okt. 1935 im freiwilligen Dienst bei der Wehrmacht. Ich besitze die Deutsche Staatsangehörigkeit und versichere an Eides statt, daß ich arischer Abstammung bin.

Otto Steinemann.